Aus dem Hygienischen Institut der Universität Tübingen.
Vorstand: Prof. Dr. K. Wolf.

Über die Lebensfähigkeit der Tuberkelbazillen

in gefärbten Ausstrichpräparaten.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen
vorgelegt von

Heinz Oppenheim
aus Tübingen.

Druck der Buchdruckerei Eugen Göbel in Tübingen
1930.

Die Frage, ob die für den Menschen pathogenen Mikroorganismen bei den zu diagnostischen Zwecken üblichen Färbeverfahren abgetötet, oder wenigstens so stark geschädigt werden, daß durch sie eine Infektion ausgeschlossen ist, wird nicht einheitlich beantwortet. Dies ist um so mehr verständlich, wen man die verschiedenen Faktoren berücksichtigt, die bei der Färbung angewendet werden, und die die Bakterien zu schädigen, oder nicht zu schädigen vermögen.

Es sind dies folgende Faktoren:

A. Das von den Bakterien selbst ausgehende Verhalten gegenüber färberischen Einflüssen.

I.

Schon die Tatsache des Lebens stellt dem Anfärben der Bakterien einen größeren Widerstand entgegen, als das bei toten Mikroorganismen der Fall ist. Nicht alle Farbstoffe, die fixierte Bakterien zu färben vermögen, können den Färbungswiderstand der lebenden oder lebensfeuchten Bakterienzellen brechen. Ganz schwache Farblösungen sind nicht imstande, bei lebenskräftigen Individuen die verminderte Permeabilität der Bakterienzellen zu überwinden und die Bakterien bleiben daher ungefärbt. Auf dem verschiedenen Verhalten toter und lebender Bakterien gegenüber gewissen Farbstoffen beruhen folgende Verfahren:

Nyfeldt[2]) unterschied tote Bakterien von lebenden dadurch, daß tote durch Silbernitrat geschwärzt wurden, dagegen lebende nicht. Proca[2]) trennte durch Methylenblau-Fuchsinfärbung lebende Bakterien (und Sporen) durch ihre blaue Farbe von den rotgefärbten toten. Ja, dieser Autor wollte mit dieser Methode sogar

II.

die Virulenz bzw. Avirulenz der Bakterien unterscheiden. Ebenso differenzierten Spengler und Kronberger[2]) virulente Tuberkelbazillen von weniger virulenten nach der Farbentönung ihrer Granula.

Es ist jedoch kaum anzunehmen, daß sich der Virulenzgrad der Bakterien färberisch darstellen lassen könnte.

Auch die einzelnen Altersstufen der Bakterien verhalten sich in färberischer Hinsicht verschieden.

So konnte Eisenberg[3]) nachweisen, daß junge Bakterien auf farbstoffhaltigen Nährböden keine Färbung zeigten, während ältere Kulturen gefärbte Einschlüsse aufwiesen. Jüngere Sporen verhalten sich gegen Färbungsprozesse und Säureeinflüsse resistenter als ältere.

Nach Stark's[10]) Untersuchungen über die Wirkung der Pasteurisierung auf junge und reife Zellen des Streptococcus faecalis und zwei Arten von Kapselbakterien waren die jüngeren Zellen viel weniger widerstandsfähig als reife.

Grimme[2]) zeigte, daß manche grampositive Bazillen im Jugendstadium gram- und gegebenenfalls säurefester sind, als im folgenden Ruhestadium. Kronberger[2]) stellte durch seine Färbung mit Methylenblau (bzw. Gentianaviolett), Essbachs Reagens (Pikrinsäure) und Eosin fest, daß junge Individuen sich stärker mit der dunklen Farbe tingieren, als ältere, die sogar die sauren Farbstoffe annehmen können. Kronberger glaubte daraus folgern zu dürfen, daß jüngere Bakterien mehr basophil, ältere mehr acidophil sind.

Zu ähnlichen Resultaten kamen Kayser und Steinschneider[2]) bei der Nachprüfung der oben erwähnten Proca'schen Methode. Sie modifizierten die Ergebnisse Procas dahin, daß nicht nur tote Bakterien die rote Farbe annehmen, sondern auch geschädigte, aber noch fortpflanzungsfähige Mikroorganismen.

Von den Säurefesten ist bekannt, daß alternde Kulturen ihre Säurefestigkeit mehr oder weniger verlieren können. Allerdings weisen auch ganz junge Tuberkelbazillen noch nicht ihre volle Säurefestigkeit auf. Ebenso sind ganz junge und ganz alte Tuberkelbazillen in verringertem Maße alkalifest.

Außer diesem durch physiologische Ursachen bedingten Verhalten kommt noch der Widerstand in Betracht, den die Bakterien auf Grund ihrer anatomischen Struktur der Färbung entgegensetzen.

In erster Linie sind hier die Hüllen oder Membranen zu nennen, die Sporen und gewisse Bakterien vor Stoffen, die bei der Färbung angewendet werden, mehr oder weniger bewahren.

Es ist längst bekannt, daß die Sporen, im Gegensatz zum vegetativen Zellleib der Bakterien, eine ungeheure Resistenz gegenüber vielen Desinfektionsmitteln besitzen. Ebenso verhalten sie sich gegen alle gewöhnlichen Färbemethoden, ohne entsprechende Vorbehandlung, refraktär. Ob sie diese Eigenschaft der schweren Durchlässigkeit der Sporenmembran (Ernst) verdanken, oder der kompakten Sporensubstanz selbst (A. Fischer),

soll hier nicht näher erörtert werden. Außer dieser Färbungsresistenz haben die Sporen mit den Säurefesten noch viele Reaktionen gemeinsam, wenn auch nicht so stark ausgeprägt, wie diese.

Die Gruppe der von Ehrlich sog. Säurefesten zeichnet sich, wie der Name sagt, durch die Resistenz gegenüber Säuren aus, deren Einwirkung sie zur Differenzierung unterworfen wird. Auch gegen andere Substanzen verhalten sich die Säurefesten refraktär, allerdings unter sich wieder verschieden, was zur Differenzialdiagnose der einzelnen Gruppenmitglieder benutzt wird. So sind Tuberkelbazillen nicht nur säurefest, sondern auch kochfest. (Kaufmann[2]) entfärbte nach Ziehl gefärbte Bakterien mit Ausnahme der Säurefesten durch siedendes Wasser; Preiss und Gain[2]) unterschieden dadurch Tuberkelbazillen von andern Säurefesten.) Außerdem sind die Tuberkelbazillen noch alkalifest (Gasis), alkohol-, gram- und formalinfest. Manche Säurefeste lassen sich schon durch gewöhnliche Farbeinwirkung darstellen; bei Tuberkelbazillen (und Leprabazillen) sind aber, um eine genügende Färbung zu erzielen, erhitzte Farblösungen notwendig, oder muß die Farbe längere Zeit auf diese Bakterien einwirken. Die gewöhnliche Färbung ohne Mithilfe von die Färbekraft steigernden Mitteln ist also bei starker Säurefestigkeit erschwert. Die Säurefestigkeit geht durch Erhitzen verloren, ebenso die Resistenz für gewöhnliche Farblösungen. Wenn aber die Färbung gelungen ist, wird die Farbe auch um so fester gehalten.

Welchen Ursachen diese Bakterien ihre Säurefestigkeit, bzw. ihre Resistenz gegen andere Einflüsse zuzuschreiben haben, ist noch nicht völlig geklärt. Ehrlich modifizierte seine ursprüngliche Hüllentheorie, wonach es den Farbstoffen und entfärbenden Säuren durch eine Fetthülle erschwert ist, in den Bakterienleib einzudringen, dahin, daß die Säuren zwar durch die Hülle eindringen können, daß die Hülle aber durch Säurewirkung ihre Permeabilität für die Farbe verliert, wodurch die Farbe nicht mehr die Hülle verlassen kann, Jedoch ist diese Theorie nur für Säuren, nicht aber für andere entfärbende Agentien annehmbar. Andere Autoren (A. Fischer, Pappenheim[2]) sehen den Grund der Säurefestigkeit in der hohen Dichte der Struktur des Bakterienleibes, wodurch die Farbe fest an die Zellsubstanz verankert wird, und auch durch Säuren nicht mehr entfernt werden kann; außerdem sollte noch der Fettwachsgehalt der Bazillen die Säurefestigkeit bedingen.

Benians'[2]) Synthese aus Ehrlichs und Pappenheims Theorie sah die Ursache der Säurefestigkeit in einer schwer zu überwindenden Wachshülle und in dem aus Eiweiß und einer fettartigen Substanz bestehendem Bakterienleib.

B. Schädigungen der Bakterien durch die bei den Färbemethoden zur Anwendung gelangenden physikalischen und chemischen Einflüsse.

Allgemein besteht die Färbung aus den 4 Phasen: Lufttrocknen, Fixieren, Färben, Differenzieren. Dazu kommt noch bei vielen Bakterienarten die Beizung, die zwischen das Fixieren und Färben eingeschaltet wird.

Demnach lassen sich die Schädigungen durch die Färbung folgendermaßen einteilen:

I. Schädigung der Bakterien durch das Lufttrocknen.

Robert Koch[4]), dem wir die Bakterienfärbung im Ausstrich verdanken, glaubte ursprünglich, daß das Eintrocknen auf dem Deckglas die Form der Bakterien weitgehend beeinflussen müsse und hielt eine Aufweichung der angetrockneten Bakterien für nötig. Jedoch konnte er sich bald überzeugen, daß die Gestalt der Bakterien sich durch die Trocknung nicht veränderte.

Was die Lebensfähigkeit der lufttrockenen Bakterien betrifft, so konnte nachgewiesen werden, daß sich alle darauf untersuchten Mikroorganismen, mindestens kurz nach der Lufttrocknung, noch völlig lebenskräftig und virulent zeigten.

Thurn[12]) berichtete von Infektionen durch Zerbrechen von Objektträgern, die mit Bakterienmaterial beladen und über der Flamme erwärmt worden waren. Ficker[4]) stellte fest, daß die Lebensfähigkeit der Bakterien bei der Lufttrocknung von folgenden Faktoren abhängig ist: von dem Aufschwemmungsmedium, der Schichtdicke, der Trocknungsgeschwindigkeit, der Fähigkeit der Luft zur Austrocknung, dem Alter der Kultur und der Temperatur, unter der sie aufbewahrt werden. Heim[12]) wies besonders auf die Bedeutung von physikalischen Einwirkungen (Wärme und Kälte, Licht und Dunkelheit) bei der Aufbewahrung getrockneter Bakterien hin.

Interessant waren die Untersuchungen über die Wirkung von diffusem und direktem Sonnenlicht, sowie von höheren Temperaturen auf die Lebensfähigkeit von Tuberkelbazillen. Unter dem Einfluß von zerstreutem Tageslicht wurden in getrocknetem Sputum Tuberkelbazillen in 4—18 Tagen abgetötet. Koch[12]) stellte fest, daß Tuberkelbazillen in verschiedenen Sputumschichten bei Einwirkung von direktem Tageslicht in wenigen Minuten bis wenigen Stunden nicht mehr lebensfähig waren. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Treskinskaja[12]), die fand, daß Tuberkel-

bazillen in sehr dünner Sputumschicht ihre Virulenz innerhalb 3—5 Stunden durch direkte Sonnenbestrahlung verlieren.

Einen bedeutenden Einfluß auf die Abtötung üben dabei nach den Untersuchungen von Thiele und Wolf[11]) die ultravioletten Strahlen aus.

Über eingehende Untersuchung an folgenden Bakterien: Mikroc. pyogen. aur., Bact. typhi, Bact. coli comm., Baz. anthr., V. cholerae, Corynebact. Diphth. und Saccharom. cerev. berichtete Thurn. Er setzte diese Mikroorganismen, nach dem Lufttrocknen verschieden lange Zeit dem diffusen Tageslicht bei gewöhnlicher Temperatur aus und fand, daß nach 24 Stunden noch sämtliche Bakterien, nach 5 Tagen noch Microc. pyog. aur., Coli und Anthrax lebensfähig waren. Diese Untersuchungen beweisen die geringen baktericiden Eigenschaften der Lufttrocknung. Sie erhalten eine große Bedeutung für die Frage der Desinfektion von beiseitegelegten, lufttrockenen Ausstrichpräparaten.

II. Schädigungen durch die Fixation.

Die am meisten geübte physikalische Fixation von Ausstrichen durch die Hitze der Bunsenflamme (und ebenso die Fixation durch Chemikalien, auf die hier einzugehen nicht nötig ist), soll die Mikroorganismen auf die Färbung vorbereiten, d. h. in einen Entquellungszustand versetzen, der dem Eindringen der Farbe Vorschub leistet. Es ist schon aus dieser Definition ersichtlich, daß mit der Fixation Schädigungen verbunden sein müssen, und es ist nur die Frage, ob das dreimalige Flambieren über dem Bunsenbrenner schon destruktiv auf die Bakterien zu wirken vermag. Dies ist tatsächlich möglich, da schon dadurch Schrumpfung des Bakterienleibes und Plasmolyse entstehen kann. Diese Erscheinungen treten besonders deutlich hervor, wenn das Präparat vor der Fixation nicht genügend lufttrocken war, weil dann die Kombination von Feuchtigkeit und Hitze toxisch wirkt.

Für feinere histologische Untersuchungen oder für Vitalfärbungen vermeidet man daher besser die physikalische Fixation und zieht die chemische vor; für die gewöhnlichen bakteriologischen Untersuchungen genügt jedoch die Fixation in der Flamme, da dadurch die Schädigung der Struktur nur unbedeutend ist.

So konnte Thurn durch Untersuchung der obengenannten Mikroorganismen feststellen, daß die Lebensfähigkeit seiner Versuchsobjekte durch die Fixation in der Flamme nicht im geringsten beeinträchtigt wurde.

III. Schädigungen durch die Beizung.

In weit höherem Grade als die Fixation sind naturgemäß die Beizen geeignet, eine Alteration der Bakterien herbeizuführen. Die

Beizen sollen ja dazu dienen, den Widerstand zu überwinden, den z. B. die Sporen, sei es durch die kompakte Protoplasmastruktur, sei es durch impermeable Membranen, dem Eindringen der Farbe entgegensetzen. Andererseits haben die Beizen die Aufgabe, die Färbung intensiver zu gestalten und die eingedrungene Farbe gegen die folgenden Entfärbungsprozesse im Bakterienleib resistent zu erhalten. Im letzten Falle sollen also die Beizen durch eine Änderung des kolloidchemischen Aufbaues, im Sinne einer Verdichtung oder Koagulation des Protosplasmas, die Bakterien in die Lage setzen, den eingedrungenen Farbstoff festzuhalten. Umgekehrt soll bei den Sporen die Struktur gelockert und dadurch das Eindringen der Farbe erleichtert werden. Zur Überwindung der Färberesistenz der Sporen kommen starke, meist anorganische Säuren in Anwendung; oder die Farblösung wird erhitzt, da Hitze ebenfalls beizend wirkt.

Im Prinzip ähnlich erfolgt die Färbung der Tuberkelbazillen. Bei ihnen kommen hierzu die lipoidlöslichen Stoffe in Betracht, die wegen ihrer Affinität zu der fettartigen Hülle der Säurefesten benutzt werden. Nach Ehrlich besteht die Wirkung der lipoidlöslichen Stoffe (Ehrlichs Anilin, Ziehls Karbolsäure) darin, daß sie die Hülle durchgängig machen und mit Farbstoffen ölige Verbindungen eingehen, wodurch die Färbekraft erhöht wird.

Daß die Lebensfähigkeit durch solche Prozeduren, die am Protoplasmas selbst angreifen, geschädigt oder sogar aufgehoben werden kann, ist verständlich. So konnte Buchner[2]) bei Sporen feststellen, daß durch alle Methoden, die die Überwindung der Färbungsresistenz bezwecken, die Sporen gleichzeitig abgetötet wurden.

Thurn zeigte jedoch, daß die von ihm bei den obengenannten Bakterien angewendete Möller'sche Sporenfärbung das Zellwachstum nicht behinderte. Milzbrand und Bac. mesent. zeigten ein üppiges Wachstum. Von diesen beiden Bakterien blieben auch bei der Färbung mit Karbolfuchsin sowohl die vegetativen Zellen als auch die Sporen am Leben, während alle anderen untersuchten Mikroorganismen durch Karbolfuchsin getötet wurden. Bei der Untersuchung der Gramfärbung auf ihre baktericiden Eigenschaften fand Thurn, daß durch die Gramfärbung sogar sporenhaltiges Material abgetötet wurde. Dabei wirkten besonders Jod und Anilin in der Gramfärbung baktercid.

IV. Schädigungen durch Farbstoffe.

Diese treten als unerwünschtes Ereignis bei der Vitalfärbung auf. Denn zahlreiche Untersuchungen an lebensfeuchten Bakterien, die ohne Mithilfe von Mitteln, die die Färbekraft erhöhen, gefärbt werden konnten, ergaben, daß alle Farbstoffe in verschieden

hohem Grade toxisch auf die Bakterien wirken. Dabei gehört zu den am wenigsten schädlichen Farbstoffen u. a. Methylenblau, das wegen dieser Eigenschaft gerne zu Vitalfärbungen herangezogen wird. Thurn konnte außer an den oben erwähnten Bakterien noch bei Sarc. flav., Bakt. pneum. Friedländer, Bact. paratyp. B., B. ent. Gärtner, B. prodig., B. fluoresc., B. vulg., V. Finkler und Mycobact. lacticola, nachweisen, daß sämtliche lufttrockene, fixierte Bakterien, die mit Methylenblau 1—5 Minuten gefärbt worden waren (mit Ausnahme von Sacch. cerev., die abgetötet wurden), nachher noch üppig wuchsen. V. cholerae. V. Finkler und Corynebact. diphth. zeigten sich ebenso wie Hefe sehr empfindlich: sie hatten ihre Wachstumsfähigkeit eingestellt.

Bokorny[3]) sah jedoch an Hefezellen, die stark mit Methylenblau tingiert waren, noch Sprossungen.

Thurn kam bei der Färbung mit Fuchsin, das ½—5 Min. einwirkte, zum selben Ergebnis wie bei der Färbung mit Methylenblau. Nur Saccharom. cerev. widerstand der 5 Minuten dauernden Fuchsinfärbung nicht; bei einer Färbedauer von 30 Sekunden wuchsen jedoch noch einige Kolonien.

Von den Farblösungen gilt der Satz:

Je geringer die Konzentration, desto schwächer die Färbung und desto geringer die Schädigung der Bakterien. Stärkere Färbung von Bakterien geht einher mit deutlicher toxischer, oder sogar baktericider Wirkung. Jedoch lassen sich auch bei sog. atoxischen Konzentrationen feinere Schädigungen, die aber noch mit dem Leben der Bakterien vereinbar sind, nicht ausschließen. Schon die Feststellung einer intensiveren Tingierung erlaubt den Schluß, daß eine erhebliche Schädigung der Mikroorganismen stattgefunden haben muß. Buchner[3]) konnte experimentell zeigen, daß Läsionen die Färbungsresistenz lebender Bakterien zu überwinden vermögen.

Im allgemeinen läßt sich über den Einfluß der Färbung auf die Lebensfunktionen der Bakterien mit Eisenberg[3]) sagen: „Es ist zweifellos, daß in vielen Fällen die Färbung mit einer Abtötung oder groben Schädigung der Bakterien verbunden ist."

Jedoch ist noch das verschiedene Verhalten der Bakterien gegenüber einzelnen Farbstoffen zu beachten, da nicht jeder Farbstoff auf alle Bakterien eine gleich toxische Wirkung ausübt, und weil die verschiedenen Lebensalter der Bakterien, wie oben erwähnt, für den gleichen Farbstoff nicht dieselbe Empfänglichkeit besitzen.

An dieser Stelle seien kurz die Wirkungen der zur Chemotherapie verwandten Farbstoffe auf Bakterien, speziell auf Tuberkelbazillen erwähnt. Die Wirkungen der Farbstoffe auf Protozoen, die von Ehrlich untersucht wurden, können hier übergangen werden. Gegen allgemeine Infektionen werden seit 1890 Methyl-

violett (Pyoctann. coerul.) und Auramin verwendet. Auch Gentianaviolett und Brillantgrün sind sogar gegen Diphtheriebazillen baktericid. Mit Methylenblau sah Nagelschmidt[9]) gute Erfolge bei der Behandlung des Ulcus molle.

Neusolidgrün 3 B, Methylviolett und Fuchsin lieferten bei der Therapie von mit Typhusbazillen behandelten Kaninchen günstige Resultate. Ebenso die Versuche von Neufeldt, Schiemann und Baumgarten[9]) mit Dahlia an milzbrandkranken Tieren. Diese Autoren sahen ferner bei mit Streptococcen, Hühnercholera und Milzbrandbazillen infizierten Mäusen deutliche Heilerfolge durch Trypaflavin.

Baumgarten konnte auch bei cholerainfizierten Tieren durch frühzeitige Anwendung kleiner Mengen von Trypaflavin Heilwirkungen nachweisen. Größere Dosen waren weniger wirksam. Trypaflavin und seine Derivate wirken besonders stark auf Streptococcen. Ebenso wirksam gegenüber Streptococcen, aber von stärkerer Wirkung auf Staphylococcen, als Trypaflavin, ist Rivanol, das auch klinisch häufig angewendet wird.

In den Kampf gegen die Tuberkulose wurden die Farbstoffe 1891 von Einhorn[9]) u. a. eingeführt. Besonders wurde die therapeutische Wirkung des Methylenblaus und seiner Verbindungen bei Tuberkelbazillen untersucht. Einhorn verwandte das Methylenblau selbst. Gräfin Linden[9]) benutzte das Jodwasserstoffsalz und das Chlorid des Methylenblaus als Kombinationspräparat bei der Kupferbehandlung der Meerschweinchentuberkulose; de Witt[9]) wandte bei diesen Tieren Quecksilber- und andere Verbindungen des Methylenblaus an. Alle diese Stoffe vermochten zwar die Tuberkulose nicht zu heilen, doch gelang es, und zwar am besten mit Methylenblau selbst, eine ziemlich beträchtliche Lebensverlängerung bei den infizierten Tieren zu erzielen. Das Methylenblau scheint aber weniger auf die Tuberkelbazillen selbst zu wirken, als auf die Bildung von Antikörpern, im Sinne einer Produktionssteigerung von Abwehrstoffen. Über gute therapeutische Erfolge bei menschlicher Lungentuberkulose mit Benzidinfarbstoffen berichtete Harrison[9]). Auf der Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Bern 1928 berichteten Hesse und Meißner[7]) über ihre Versuche, Stoffe zu finden, die auf Grund einer spezifischen Affinität zu den Tuberkelbazillen Heilwirkung entfalten. Diese Untersuchungen ergaben, daß sich Tuberkelbazillen in vitro nicht anfärben lassen durch Nitro- und Nitrosofarben, durch Pyrazolon- und Stilbenfarben, durch Diphenylmethane, Akridine, Chinoline und Thiobenzylfarben. Aus den andern untersuchten Gruppen nahmen Tuberkelbazillen besonders basische Substanzen der Triphenymethan-Thiazin-Azin- und Xanthonreihe auf.

Die Versuche in vivo interessieren in diesem Zusammenhange weniger.

Bei allen zur Chemotherapie benutzten Farbstoffen (und auch anderen Substanzen) ist zu beachten, daß die Einwirkung auf Bakterien in vivo und in vitro nicht parallel geht. Dies ist leicht zu erklären, da einerseits in vitro die Abwehrkräfte des lebendigen Organismus wegfallen und andererseits die in vitro sicher bakteriocid wirkenden Substanzen in vivo oft, wegen des toxischen Einflusses auf das Körpereiweiß selbst, nicht angewendet werden können.

V. Einfluß der Entfärbung und Gegenfärbung auf die Bakterien.

Diese beiden Verfahren dienen der Differenzierung der Bakterien gegenüber der Umgebung, gegenüber anderen Bakterinarten, oder der verschiedenen Zellanteile eines Bakteriums untereinander. Dabei werden gewisse Eigentümlichkeiten im färberischen Verhalten der Bakterien gegenüber ihrer Umgebung (bzw. der einzelnen Bakterienbestandteile untereinander, von denen hier abgesehen werden soll) zur Unterscheidung benutzt.

So unterscheiden wir eine Gruppe „Gramfester" von einer Gruppe, die sich nach Gram färben läßt. Daß die Säurefesten ihren Namen der Resistenz gegenüber entfärbenden Säuren verdanken, wurde oben schon erwähnt, ebenso, daß sich einzelne Säurefeste vor anderen durch verschiedene färberische Eigenschaften auszeichnen. Entfärbung und Gegenfärbung bei den Säurefesten greifen fast ausschließlich an der Umgebung an; deshalb ist schon a priori anzunehmen, daß sie auf die Säurefesten keinen stark schädigenden Einfluß ausüben. Speziell die Gegenfärbung der Umgebung kann hier außer Acht gelassen werden. Die Lebensfähigkeit der mit der Gegenfarbe tingierten Bakterien verhält sich wie bei der oben erwähnten Einwirkung gewöhnlicher Farbstoffe. Allerdings bleibt die potenzierende Wirkung der Gegenfärbung immer möglich.

Als Entfärber werden bei den Säurefesten, speziell bei den Tuberkelbazillen, fast ausschließlich starke anorganische Säuren: Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure angewendet. Der Widerstand der Tuberkelbazillen gegen die entfärbenden Mineralsäuren ist sehr groß, doch ist er natürlich von der Dauer der Einwirkung und der Konzentration abhängig.

Nach Hailer[6]) werden Tuberkelbazillen durch Normalsalzsäure in 24 Stunden nicht sicher abgetötet; gegen starke Salpetersäure waren die Tuberkelbazillen etwas empfindlicher. Die schwache schweflige Säure in 1/100-Normallösung wirkte dagegen schon in 15 Minuten abtötend. Nach Löwensteins[8]) Unter-

suchungen ließen 40%ige Schwefelsäure und 35%ige Natronlauge in 5facher Sputummenge Tuberkelbazillen am Leben und töteten die Begleitbakterien ab. Ebenso wirkte die Salzsäure; dagegen nicht 30%ige Essigsäure und Milchsäure, die die Begleitbakterien unversehrt ließen.

Hohn[8]) untersuchte die Einwirkung der Schwefelsäure auf das Wachstum der Tuberkelbazillen auf Einährböden. Er stellte fest, daß auf Eiröhrchen bei Anwendung von höchstens 13—14%iger Schwefelsäure noch alle untersuchten Objekte Wachstum der Tuberkelbazillen zeigten. Bei Verwendung einer 15%igen Schwefelsäure waren von 13 Sputa nur 4 in der Kultur positiv. Das schnellste und üppigste Wachstum der Tuberkelbazillen erfolgte bei Anwendung von 2%iger Schwefelsäure. (Die Zeitdauer der Säureanwendung ist nicht angegeben.) Die Schwefelsäure diente zur Abtötung der anderen, die Untersuchungsobjekte (Sputum, Urin usw.) verunreinigenden Bakterien.

Streptococcen, Staphylococcen und Pneumococcen wurden durch 0,2%ige Schwefelsäure in ½ Stunde abgetötet. Bakt. Coli war etwas resistenter. Hohn empfahl bei seiner Züchtung 10 und 12%ige Schwefelsäure 20—30 Min. lang einwirken zu lassen.

Schon Ziehl[5]) glaubte nach der Fuchsinfärbung die Tuberkelbazillen sofort mit Methylenblau nachfärben und die Säure weglassen zu müssen, um der Möglichkeit der Entfärbung einiger Tuberkelbazillen durch Säuren zu entgehen. Die gleiche Idee lag der Färbung der Tuberkelbazillen nach Weichselbaum zugrunde. Einige andere Autoren, z. B. Czaplewski, Konrich u. a. verwandten statt der starken Säuren andere Entfärber. Bei der zu diagnostischen Zwecken üblichen Färbung der Tuberkelbazillen ist aber der etwaige Färbeverlust so geringfügig, daß die Säure in der Färbung beibehalten wird.

Werden also die Mikroorganismen durch die einzelnen Phasen der Färbung schon mehr oder weniger geschädigt, so wird der toxische Einfluß in noch höherem Maße deutlich durch die Gesamtheit der bei der Färbung angewandten Mittel. Und zwar ist anzunehmen, daß sich die Wirkung der einzelnen Abschnitte der Färbung nicht nur summiert, sondern oft sogar potenziert.

Aus den angeführten Beispielen ist zu ersehen, daß es nicht möglich ist, weder für eine bestimmte Bakterienart noch für ein bestimmtes Färbeverfahren ein einheitliches Urteil über die Lebensfähigkeit der Bakterien auf Grund der bakterioskopischen Färbung abzugeben. Die Bakterien verhalten sich vielmehr in dieser Hinsicht verschieden, je nach der angewandten Färbemethode, bzw. den einzelnen Komponenten der Färbung. Außerdem vermag aber auch nicht ein und dasselbe Färbeverfahren sämtliche Bakterienarten gleichermaßen zu beeinflussen. Demnach ist es notwendig, den Einfluß der verschiedenen Färbungen auf die Lebens-

fähigkeit der Mikroorganismen für jede einzelne Bakterienart getrennt systematisch zu untersuchen.

Es bestehen bisher nur drei derartige Arbeiten. Die Thurn's[12]) wurde bereits erwähnt; die Arbeit Schmidt's, die eine Nachprüfung der Arbeit von Thurn darstellt und zu den gleichen Ergebnissen gelangt wie dieser, konnte in Original nicht aufgefunden werden. Diese beiden Arbeiten beschäftigen sich nicht mit Tuberkelbazillen. Es ist das Verdienst von M. Triuss[13]), als erste Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von Tuberkelbazillen in bakterioskopischen Präparaten angestellt zu haben.

Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Triuss'schen Arbeit mit unseren Untersuchungen verglichen werden. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei Triuss: Es wurden teils aus Reinkulturen von Tuberkelbazillen (Typ. human.), teils (in der großen Mehrzahl) aus Sputum, das in verschiedener Zahl Tuberkelbazillen enthielt, Ausstrichpräparate von gewöhnlicher Dicke auf Objektträgern hergestellt. Nach dem Lufttrocknen wurden die Präparate durch „3maliges durch-die-Flamme-ziehen" fixiert und anschließend nach verschiedenen Verfahren gefärbt. Dann wurde das gefärbte Material abgeschabt und mit physiologischer Kochsalzlösung Meerschweinchen subkutan oder intraperitoneal eingespritzt.

Triuss infizierte auf diese Weise 17 Meerschweinchen, von denen 3 Tiere zur Kontrolle nur mit abgeschabtem, getrocknetem, aber weder fixiertem, noch gefärbtem Material behandelt wurden. Diese 3 Kontrolltiere gingen nach 4—12 Wochen an generalisierter Tuberkulose ein. Ein viertes Tier, das mit fixiertem, aber nicht gefärbtem Auswurf behandelt worden war, wurde 6 Wochen post infekt. getötet; bei der Sektion fand sich generalisierte Tuberkulose mit Tuberkelbazillen in allen Organen. Die übrigen 13 Tiere infizierte Triuss folgendermaßen: 1 Meerschweinchen wurde mit Auswurf behandelt, der mit alkoholwässrigem Methylenblau 3 Minuten gefärbt worden war; nach 6 Wochen ging es an generalisierter Tuberkulose ein. — 2 Meerschweinchen wurde Auswurf, der mit Ziehl'schem Karbolfuchsin bis zur Abgabe starker Dämpfe gefärbt worden war, eingespritzt. Das eine Tier starb nach 3½ Monaten an Tuberkulose; das andere wurde nach 52 Tagen getötet. Die Sektion ergab generalisierte Tuberkulose. — 3 Meerschweinchen wurden mit Auswurf geimpft, der nach der Färbung mit Ziehl'schem Karbolfuchsin durch 20%ige Schwefelsäure ½—1 Minute entfärbt worden war. Das erste Präparat blieb ohne Nachfärbung; das zweite wurde mit Methylenblau, und das dritte mit Pikrinsäure nachgefärbt. Diese 3 Tiere wurden nach 3½ Monaten getötet und bei der Sektion fanden sich keinerlei tuberkulöse Veränderungen. — 1 Meerschweinchen wurde mit einer Reinkultur infiziert, die nach Ziehl gefärbt worden war (Entfär-

bung mit 20%iger Schwefelsäure). Nach 7 Wochen ging es an Tuberkulose ein. — 2 Meerschweinchen wurden mit nach Weichselbaum gefärbtem Auswurf behandelt. Davon starb eines nach 4½ Monaten an generalisierter Tuberkulose mit Tuberkelbazillen in allen Organen. Das andere verendete nach 6 Wochen; bei der Sektion fand sich keine Tuberkulose. — 2 Meerschweinchen wurde Auswurf eingespritzt, der nach Färbung mit Karbolfuchsin durch 15%ige Salpetersäure entfärbt wurde. Das eine Tier wurde nach 2½ Monaten, das andere nach 10 Monaten getötet. Bei der Sektion konnte keine Tuberkulose nachgewiesen werden. Im Ausstrichpräparat aus der Milz des zweiten Meerschweinchens fanden sich vereinzelte Tuberkelbazillen. — 2 Meerschweinchen wurden mit Auswurf geimpft, der nach Behandlung mit Karbolfuchsin durch 10%ige Salzsäure entfärbt worden war. Das eine Tier starb nach 3 Monaten an generalisierter Tuberkulose, das andere verendete 9 Wochen nach der Infektion, nachdem ihm 0,5 Alttuberkulin unter die Haut gespritzt worden war. Die Sektion ergab makroskopisch generalisierte Tuberkulose, jedoch konnten keine Tuberkelbazillen in den Organen nachgewiesen werden.

Wir stellten Versuche an 30 Meerschweinchen an, wovon 7 Tiere zur Kontrolle dienten. Davon wurden 3 Tiere mit jedesmal verschiedenem Sputum infiziert, das nach dem Ausstreichen auf die Objektträger nur lufttrocken war; 3 Sputa wurden auf dem Objektträger nach der Lufttrocknung dreimal „durch die Flamme gezogen". Diese 6 Tiere gingen sämtlich nach 7—17 Wochen ein. Die Sektion ergab schwerste generalisierte Tuberkulose und positiven Tuberkelbazillenbefund in den Organausstrichen. Das siebte Tier wurde mit einem tuberkulösem Sputum, das mit Antiformin behandelt worden war, geimpft. Es gab nach 8 Monaten eine positive Tuberkulinreaktion. Nach einem Jahr wurde es getötet. Das Gewicht betrug 700 g gegen 200 g zur Zeit der Injektion. Die Sektion ergab keinen Anhalt für Tuberkulose. Dieses negative Ergebnis ist wohl als Folge einer stark baktericiden Wirkung des Antiformins auf die Tuberkelbazillen aufzufassen. (Diese 7 Tiere dienten selbstverständlich je zur Kontrolle der einzelnen Versuche.)

An den übrigen 23 Tieren wurden folgende Versuche angestellt:

Zunächst wurden 2 Tiere mit Sputum infiziert, das nach Ziehl-Neelsen, nach dem im Tübinger Hygienischen Institut üblichen Verfahren, das wohl auch in den meisten anderen Instituten eingehalten wird, gefärbt worden war. Nach dem Lufttrocknen wurden die Präparate dreimal durch die Flamme gezogen und mit kochend heißem Karbolfuchsin 3 Minuten gefärbt; hierauf Salzsäurealkohol (3 % Salzsäure und 97 % 96%iger Alkohol) 5 Minuten und nach Abspülen mit Wasser Nachfärbung mit Methylenblau eine halbe Minute. Nach erneutem Abspülen mit Wasser wurde die

gefärbte Sputumschicht abgetragen und mit steriler physiologischer Kochsalzlösung den Tieren subkutan eingespritzt.

Beide auf diese Weise behandelten Tiere blieben am Leben und ergaben negative Tuberkulinreaktion. Beide Tiere wurden erst nach 8½ Monaten getötet. Anfangsgewicht: je 200 g; Gewicht vor der Tötung: je 600 g. Die Sektion ergab völlig normalen Befund. Der Abstrich aus Leistendrüsen, Milz und Leber war negativ, ebenso die Züchtung aus diesen Organen. Aus der nicht vergrößerten Milz eines Tieres wurde mit physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion hergestellt und diese einem Tier einverleibt. Das Tier wurde nach 3½ Monaten getötet und dessen Sektionsbefund war ebenfalls negativ.

Auch die von Triuss angewandte Ziehl'sche Färbemethode, bei der als Entfärbung anstatt Salzsäurealkohol 20%ige Schwefelsäure benutzt wurde, lieferte, im Gegensatz zu den Befunden von Triuss, ein negatives Ergebnis: das Meerschweinchen blieb am Leben. Die im siebten Monat p. inf. angestellte Tuberkulinreaktion fiel negativ aus; bei der Sektion, 9 Monate nach der Injektion, ergab sich ein völlig normaler Befund. Das Tier hatte von 210 g auf 590 g an Gewicht zugenommen.

Nachdem also durch die gewöhnliche Färbung nach Ziehl-Neelsen Tuberkelbazillen abgetötet worden waren, wurde weiter untersucht, welche Komponente der Färbung diese Wirkung hervorruft.

Deshalb wurde einem Meerschweinchen der Ausstrich eines Sputums intraperitoneal eingespritzt, das 3 Minuten lang mit alkoholwässrigem Methylenblau gefärbt worden war. Das Tier ging nach 37 Tagen ein. Die Sektion ergab folgenden Befund: Auf der linken Seite eine erbsengroße, auf der rechten Seite zwei linsengroße Leistendrüsen. Auf dem rechten Brustbeinrand eine linsengroße Drüse. Im Mesenterium mehrere strangartig verbackene und verkäste Drüsen. Leber und Milz je auf das 1½fache des Normalvolumens vergrößert. In beiden Organen verkäste Herde. Beide Lungen frei von patholog. Veränderungen. Im Abstrich aus zwei Leistendrüsen fanden sich zahlreiche Tuberkelbazillen. Demnach bestätigt sich Triuss' Befund: Methylenblau vermag Tuberkelbazillen nicht abzutöten.

Umgekehrt wurde an 4 Versuchstieren, die mit Sputum infiziert wurden, das nach Ziehl-Neelsen, aber ohne Methylenblaunachfärbung behandelt worden war, nachgewiesen, daß die abtötende Komponente nicht das Methylenblau sein kann. Sämtliche Tiere reagierten nach 8 Monaten auf Tuberkulin negativ und ergaben bei der Tötung nach 9 Monaten absolut normalen Sektionsbefund. Auch die Abstriche aus Leistendrüsen, Leber und Milz, sowie die Kultur aus diesen Organen, waren negativ. Nun konnte

der Bestandteil der Ziehl-Neelsenfärbung, der Tuberkelbazillen abtötet, nur noch im Karbolfuchsin, in der Säure, oder im Alkohol liegen, nachdem sowohl die Lufttrocknung und Fixation (wie die Kontrolltiere zeigten), als auch die Gegenfärbung keine Schädigung der Bakterien bewirken konnten.

Die Nachprüfung der Ergebnisse von Triuss, wobei Auswurf nach der Färbung mit Karbolfuchsin und Entfärbung mittels 20%iger Schwefelsäure, teils ohne Nachfärbung, teils mit Methylenblau-, teils mit Pikrinsäurefärbung, Meerschweinchen infiziert wurde, lieferte das gleiche Resultat.

Die von uns verwendeten 4 Tiere zeigten bei der Tötung nach 5 bzw. 8 Monaten, ebenso wie die 3 Tiere von Triuss, keinerlei tuberkulöse Veränderungen.

Der Alkohol als abtötende Komponente der Ziehl-Neelsenfärbung konnte, außer durch diese Versuche, noch durch folgende vier Ergebnisse ausgeschlossen werden: Einem Tier wurde Sputum subkutan eingeimpft, das nach dem Flambieren und der Färbung durch Karbolfuchsin 5 Minuten mit 3%iger Salzsäure behandelt worden war. Einem zweiten Tier wurde intraperitoneal Sputum einverleibt, das nach dem Flambieren und der Karbolfuchsinfärbung 5 Minuten mit 10%iger Salzsäure entfärbt worden war. — Einem dritten Meerschweinchen wurde Sputum subkutan injiziert, das anstelle der Salzsäure mittels 20%iger Schwefelsäure 5 Minuten entfärbt wurde. Und einem vierten Tier wurde schließlich Sputum eingespritzt, bei dem zur Entfärbung 5 Minuten lang 15%ige Salpetersäure eingewirkt hatte.

Sämtliche 4 Tiere wurden nach 5—6 Monaten getötet. Drei Tiere hatten in der Zwischenzeit ihr Gewicht verdoppelt und das vierte verdreifacht. Bei der Sektion ergab sich ein völlig normaler Befund. Weder die Abstrichpräparate, noch die Kultur aus verschiedenen Organen lieferten Tuberkelbazillen. Ebenso war die Tuberkulinprobe, die an 2 Tieren 4 Monate p. inf. angestellt wordn war, negativ ausgefallen.

Dieser Befund stimmt nur zum Teil mit den Ergebnissen von Triuss überein. Diese Autorin kam zwar bei den Tieren, die mit, durch 15%ige Salpetersäure entfärbtem, Sputum infiziert wurden, zu keinem positiven Ergebnis. Tuberkulöse Organveränderungen konnten bei der Sektion nicht nachgewiesen werden. Im Ausstrichpräparat aus der Milz fanden sich jedoch vereinzelte Tuberkelbazillen.

Bei der Entfärbung des Sputums mit 10%iger Salzsäure konnte Triuss im Ausstrich aus Organen bakterioskopisch keine Tuberkelbazillen feststellen; die Organe erwiesen sich aber makroskopisch und histologisch als tuberkulös.

Unsere Versuche ergaben also, daß die Tuberkelbazillen schon ohne Mithilfe des Alkohols bei der Ziehl-Neelsen färbung abgetötet wurden und somit nur noch im Karbolfuchsin, oder in der Säure die baktericiden Eigenschaften liegen konnten. Daß die Säuren die Tuberkelbazillen nicht abzutöten vermögen, wenigstens nicht in dem bei den üblichen Färbeverfahren verwandten Konzentrationen, geht aus dem, was oben über die Entfärbung angeführt wurde, hervor. Triuss fand ferner bei einem Tier, dem Sputum injiziert wurde, das nach der Lufttrocknung in 20%iger Schwefelsäure 1 Minute lang eingetaucht worden war, nach 9 Monaten generalisierte Tuberkulose.

Wir stellen an 2 Tieren folgende Versuche an:

Nach der Lufttrocknung, dem Flambieren und der Karbolfuchsinfärbung, wurde Sputum 5 Minuten in 96%igen Alkohol getaucht und nach dem Abschaben den beiden Tieren subkutan einverleibt. Das eine Tier wurde nach 5 Monaten, das andere nach 9 Monaten getötet. Beide Meerschweinchen lieferten einen völlig normalen Sektionsbefund. Beim zweiten Tier war die Tuberkulinprobe negativ, das Gewicht vermehrte sich auf das dreifache. — Einem andern Tier wurde intraperitoneal Sputum eingespritzt, das nach Weichselbaum gefärbt worden war. Es reagierte weder auf Tuberkulin, noch fand sich bei der Sektion nach 6 Monaten, in welcher Zeit das Gewicht auf das dreifache des ursprünglichen angestiegen war, irgend ein Anhaltspunkt für Tuberkulose. Auch Triuss kam bei einem Tier zu einem negativen Ergebnis; bei einem andern Tier zeigte sich aber nach 4½ Monaten bei der Sektion generalisierte Tuberkulose.

Nun blieb nur noch, nach vorausgehendem Lufttrocknen und Flambieren, die 3 Minuten dauernde Färbung mit kochend heißem Karbolfuchsin übrig.

Es wurden drei Versuche angestellt.

2 Tieren wurde subkutan die Emulsion eines derart vorbehandelten Sputums injiziert. Das eine Tier wurde nach 2½ Monaten getötet. Bei der Sektion war kein pathologischer Befund zu erheben. Die Ausstrichpräparate und Kulturen aus Leistendrüsen, Mesenterialdrüsen und Milz waren frei von Tuberkelbazillen. Das zweite Tier reagierte nach 8 Monaten negativ auf Tuberkulin. Vor der Sektion, die 9 Monate nach der Infektion angestellt wurde, war das Gewicht von 210 g auf 600 g gestiegen. Die Sektion selbst ergab keinen pathologischen Befund, ebensowenig die Ausstrichpräparate und Kulturen aus verschiedenen Organen. Einem dritten Tier endlich wurde die Emulsion intraperitoneal eingespritzt. Es starb nach 2½ Monaten. Die Sektion ergab eine leichte Vergrößerung der Leistendrüsen beider Seiten; die Milz war auf das Vierfache und die Leber auf das Doppelte des normalen Volumens angewachsen.

In beiden Organen fanden sich verkäste Herde; solche waren auch in beiden Lungen sichtbar. Ferner bestand eine Perikarditis. Im Abstrich aus Leber und Milz fanden sich Tuberkelbazillen. Die beiden von Triuss ebenso behandelten Tiere zeigten bei der Sektion generalisierte Tuberkulose.

Außer der Untersuchung des Einflusses der einzelnen Bestandteile der Ziehl-Neelsen färbung wurde von uns noch ein Tier mit nach Jötten-Haarmann gefärbtem Sputum subkutan infiziert. (Nach der 3 Minuten dauernden Einwirkung von kochend heißem Karbolfuchsin Entfärbung mittels 15% iger Salpetersäure 20 Sekunden; kurzes Abspülen mit Wasser, nochmaliges Einwirken der 15% igen Salpetersäure 10 Sekunden, Abspülen mit Wasser, Nachfärben mit Spenglers Pikrinsäurealkohol 1 Minute.) Das Resultat war, wie erwartet, das gleiche wie bei dem oben erwähnten Versuch mit 15% iger Salpetersäure. Das Tier hatte bei der Tötung nach 8½ Monaten das Dreifache des Gewichts zur Zeit der Infektion erreicht. Die Sektion ergab, wie die Ausstrichpräparate und die Kultur aus Organen, keinen Anhaltspunkt für Tuberkulose.

Triuss kam auf Grund ihrer Versuche zu folgenden Ergebnissen:

Tuberkelbazillen werden in Präparaten, die nach dem Flambieren mit Methylenblau oder kochen heißem Ziehl'schem Karbolfuchsin gefärbt worden waren, nicht abgetötet. Auch nach der Entfärbung durch 10% ige Salzsäure oder Alkohol behalten sie ihre Lebensfähigkeit. Nur 20% ige Schwefelsäure und 15% ige Salpetersäure vermögen die Tuberkelbazillen, wenn auch nicht sicher, abzutöten.

Wir konnten diese Ergebnisse nicht in allen Punkten bestätigt finden. Wir kamen zu folgenden Resultaten:

I. Tuberkelbazillen werden nicht abgetötet:

1. Durch das gewöhnliche Lufttrocknen der Ausstrichpräparate.

2. Durch das übliche Fixieren.

3. Durch 3 Minuten dauernde Färbung mit alkoholwässrigem Methylenblau.

II. Tuberkelbazillen werden nicht sicher abgetötet:

Durch 3 Minuten dauernde Einwirkung von kochend heißem Karbolfuchsin.

In zwei Fällen, bei den Meerschweinchen subkutan mit Karbolfuchsin vorbehandeltes Sputum einverleibt wurde, blieben die Tiere am Leben, und bei der Sektion fand sich keine Tuberkulose.

In einem dritten Fall wurde das Tier intraperitoneal mit Sputum infiziert und starb an Tuberkulose. Ob dieser Unterschied im dritten Fall von der erhöhten Virulenz der Bazillen herrührt, oder von

der stärkeren toxischen Wirkung der intraperitonealen, gegenüber der subkutanen Injektion, ist nicht sicher zu entscheiden. Absolut sicher ist also die für die Tuberkelbazillen baktericide Wirkung des kochend heißen Karbolfuchsins nicht.

III. Tuberkelbazillen werden sicher abgetötet:

1. Durch die Färbung nach Weichselbaum. (Triuss fand in einem von zwei Fällen generalisierte Tuberkulose; das zweite Tier war frei von Tuberkelbazillen.)

2. Durch der Karbolfuchsinfärbung nachfolgende Entfärbung mit anorganischen Säuren, Alkohol, oder beiden zusammen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Triuss blieben sämtliche 13 von uns untersuchten Tiere frei von tuberkulösen Erscheinungen, wobei es gleichgültig war, welche von den drei Säuren, Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, zur Entfärbung benutzt wurde.

3. Durch die komplette Ziehl-Neelsenfärbung (Entfärbung mit Salzsäurealkohol).

Nach dem vorhergehenden Ergebnis ist dies ohne weiteres verständlich. Triuss fand jedoch bei der Ziehlfärbung (Entfärbung mit 20%iger Schwefelsäure) einer Reinkultur noch lebensfähige Tuberkelbazillen.

4. Durch die Färbung nach Jötten-Haarmann.

Zusammenfassend läßt sich also sagen:

Tuberkelbazillen verlieren im Ausstrich auf Objektträger ihre Lebensfähigkeit, wenn sie mit der am meisten gebrauchten Methode von Ziehl-Neelsen gefärbt werden.

Das gleiche ist bei der Färbung nach Jötten-Haarmann der Fall.

Tuberkelbazillen werden im Ausstrich auch nach der Färbung mit Karbolfuchsin allein abgetötet, wenn es sich nicht um besonders lebenskräftige Stämme handelt.

Die Lebensfähigkeit vorher gefärbter, selbst sehr lebenskräftiger Tuberkelbazillen, wird durch die Entfärbung mit Säuren oder Alkohol, oder beiden zusammen, aufgehoben.

Methylenblau allein vermag Tuberkelbazillen im Ausstrich nicht abzutöten.

Demnach ist für die Prophylaxe in der Laboratoriumspraxis zu fordern, daß Präparate, die Tuberkelbazillen enthalten, und die noch nicht, wenigstens mit Karbolfuchsin, gefärbt wurden, als pathogen anzusehen sind. Sie müssen desinfiziert werden.

Am Schlusse dieser Ausführungen ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Wolf für die gütige Überlassung des Themas, sowie des wertvollen Untersuchungsmaterials und für die Anleitung zur Bearbeitung des Themas meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Ebenso möchte ich Herrn Privatdozent Dr. Saleck für die freundliche Unterstützung und das allzeit der Arbeit entgegengebrachte Interesse bestens danken.

Literaturverzeichnis.

1. P. v. Baumgarten: Lehrbuch der pathogenen Mikroorganismen, 1911, S. 93—152, S. 180—206, S. 635—775.
2. P. Eisenberg: Theorie der Bakterienfärbung. (Im Handbuch der mikrobiologischen Technik I, 1923), S. 161—247.
3. P. Eisenberg: Über Vitalfärbung von Bakterien. Ebenda, S. 257—265.
4. M. Ficker: Methoden der Bakterienfärbung im Ausstrich. Ebenda, S. 267—327.
5. M. Ficker: Methoden der Geißel-, Kapsel- und Sporenfärbung. Ebenda, S. 341—356.
6. E. Hailer: Über das Verhalten der Tuberkelbazillen gegenüber keimtötenden Stoffen. Deutsche medizin. Wochenschrift 1928, S. 1918—1919.
7. Hesse: Verfahren für die Auswahl von Substanzen zur Chemotherapie der Tuberkulose; und
   G. Meißner: Anfärbung, Wachstumshemmung und Baktericide der Tuberkelbazillen durch Farbstoffe. Zentralbl. f. Bakteriol. I. Abt. Orig.-Band 110, Beiheft S. 170—176.
8. J. Hohn: Die Kultur der Tuberkelbazillen zur Diagnose der Tuberkulose. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig.-Band 98, S. 460 ff.
9. H. Schloßberger: Chemotherapie der Infektionskrankheiten. (Im Handbuch der pathog. Mikroorganismen 1928), S. 551—599.
10. Stark, C. N. and Stark, Pauline: The relative thermal death rates of young an mature bacterial cells. J. Bacter. 18, 333—337 (1929). Ref. im Zentralbl. f. d. gesamte Hygiene. Band 22, 1930. S. 390.
11. Thiele und Wolf: Über die Abtötung von Bakterien durch Licht. Archiv für Hygiene 57, S. 29 ff. und Archiv für Hygiene 60, S. 29 ff.
12. O. Thurn: Über die Lebensfähigkeit an Objektträgern angetrockneter, ungefärbter und gefärbter Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.-Band 74, S. 81—90.
13. M. Triuss: Über die Lebensfähigkeit der Tuberkelbazillen in den bakterioskopischen Präparaten. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig.Band 110, S. 148—151.

Lebenslauf.

Ich, Heinz Oppenheim, bin als Sohn des Kaufmanns J. Oppenheim und seiner Frau Liesel geb. Seemann am 25. IV. 1907 zu Tübingen geboren. Nach dem Besuch des Gymnasiums zu Tübingen, wo ich im März 1925 die Reifeprüfung bestand, widmete ich mich dem Studium der Medizin, und zwar studierte ich während der beiden ersten Semester in München, im dritten und vierten Semester in Tübingen, wo ich im Sommer 1927 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Hierauf studierte ich im fünften Semester an der Universität Tübingen, im sechsten an der Universität Frankfurt a. M., im siebten in Tübingen, im achten in Wien, im neunten und zehnten wieder in Tübingen, wo ich das Studium der Medizin am 25. Juni 1930 mit dem Staatsexamen abschloß.